

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2022.02.008

# 基于网络药理学策略分析青蒿应用于 新型冠状病毒感染肺炎的可行性

杜伟, 占敏霞, 吴思澜, 张莉

重庆市中药研究院, 重庆 400065

**摘要:** 为分析青蒿应用于新型冠状病毒感染肺炎(以下简称新冠肺炎)的可行性, 采用 TCMSP, Pubchem 数据库获取青蒿化学成分, 并筛选出活性成分及作用靶点; 通过 GeneCards 数据库筛选新冠肺炎相关的靶点; 利用 Cytoscape 3.6.1 软件、STRING 11.0 数据库分析青蒿的关键靶点、GO 富集、KEGG 富集。结果表明: 青蒿活性成分为 19 个, 青蒿与新冠肺炎交集的靶点共 13 个, 筛选出的核心靶点 7 个(IL6, TNF, CCL2, IL1B, NOS2, TP53, CASP3), 其中 12 个活性成分均可作用于 NOS2, 认为 NOS2 为主要关注靶点, 作用于 NOS2 的活性成分为主要关注成分。GO 和 KEGG 富集分析显示: 青蒿可作用于 TNF/NOS2 信号通路的多个靶点而减轻新冠肺炎的肺部炎症性损伤, 认为青蒿应用于新冠肺炎具有可行性。

**关键词:** 青蒿; 新冠肺炎; 网络药理学

**中图分类号:** R285      **文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2022)02-0069-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Analysis of the Feasibility of Applying *Artemisia annua* L. to COVID-19 Based on Network Pharmacology Strategy

DU Wei, ZHAN Minxia, WU Silan, ZHANG Li

Chongqing Institute of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400065, China

**Abstract:** In order to analyze the feasibility of applying *Artemisia annua* L. to COVID-19, TCMSP and Pubchem databases were used to obtain the chemical constituents of *Artemisia annua* L., and the active components and targets were screened. The COVID-19-related targets were screened with GeneCards database. The key targets, GO enrichment and KEGG enrichment of *Artemisia annua* L. were analyzed by using the software of Cytoscape 3.6.1 and STRING 11.0. The results showed that there were 19 active components in *Artemisia annua* L., 13 targets intersected with COVID-19, and 7 core targets (IL6, TNF, CCL2, IL1B, NOS2, TP53, CASP3) were identified. Among them, 12 active components could act on NOS2, indicating that NOS2 should be considered as the main target. Go and KEGG enrichment a-

收稿日期: 2020-08-04

基金项目: 重庆市科技局项目(cstc2020jcyj-msxm0525); 重庆市基本科研业务费项目(jbky20200014)。

作者简介: 杜伟, 工程师, 主要从事中药新药药理毒理的研究。

通信作者: 张莉, 研究员。

analysis showed that *Artemisia annua* L. could act on multiple targets of TNF/NOS2 signaling pathway to reduce the lung inflammatory injury of COVID-19, which suggested that *Artemisia annua* L. could be used in treatment of COVID-19.

**Key words:** *Artemisia annua* L.; COVID-19; network pharmacology

新型冠状病毒感染肺炎(Corona Virus Disease 2019, COVID-19), 以下简称新冠肺炎. 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)从首次被鉴别出至今已逾 1 年, 因其具有较高的传染性, 持续对我国及全世界人民的生活产生不利影响. 新冠肺炎患者初期以发热、干咳、乏力为主要症状, 部分患者可伴有纳差、腹泻等消化道症状或恶寒、肌痛, 少数可能无发热症状; 随病情进一步发展, 中期及重症期可出现口咽舌干、胸闷、呼吸困难、多脏器功能衰竭等表现<sup>[1-2]</sup>. 从既往的病毒感染治疗策略来讲, 直接的病毒抑制是有效的方法之一, 遗憾的是目前尚无针对新型冠状病毒的特效抑制药<sup>[3]</sup>. 从抗击疫情的临床实践来讲, 中药的应用发挥着重要作用<sup>[3]</sup>.

应用中药, 关键在于以中医药理论为支撑. 新型冠状病毒是新冠肺炎的致病因子, 热是新冠肺炎的重要病机之一<sup>[4]</sup>. 针对病机的辨证施治是现阶段中医药治疗新冠肺炎的主要手段, 即统筹兼顾清热的治法是一种重要的手段. 青蒿(菊科植物黄花蒿的干燥地上部分 *Artemisia annua* L.), 为常用寒性清热中药, 具有清虚热、除骨蒸、解暑热、截疟、退黄的功效, 临床应用无毒性发生. 推测青蒿具有应用于新冠肺炎的可行性. 通过文献分析, 青蒿成分较多, 存在多靶点的可能, 故引入网络药理学方法进行快速分析<sup>[5]</sup>, 以便促进新冠肺炎的更好防控.

## 1 材料与方法

### 1.1 数据库与软件

中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP), 人类基因组注释数据库(GeneCards), 有机小分子生物活性数据库(Pubchem), 蛋白相互作用数据库 STRING 11.0, UniProt 数据库, Cytoscape 3.6.1 软件, Omicshare 云平台.

### 1.2 青蒿的活性成分及靶点获取

采用 TCMSP 数据库, 在“Herb name”项下, 以“青蒿”为检索词, 获取青蒿已知的化学成分, 筛选出具有良好口服生物利用度( $OB \geq 30\%$ )和类药性( $DL \geq 0.18$ )的化合物<sup>[5]</sup>. 根据筛选出的化合物, 采用 TCMSP 数据库和 Pubchem 数据库进行靶点预测. 将靶点预测结果导入 UniProt 数据库进行基因的标准化处理, 并导入 STRING 11.0 映射为人的基因.

### 1.3 新冠肺炎相关靶点获取

以“Corona Virus Disease 2019”为检索词, 在 GeneCards 数据库中获取新冠肺炎的相关靶点, 筛选得分为 10.00 以上的靶点, 得到目前治疗新冠肺炎的相关靶点.

### 1.4 青蒿—活性成分—疾病靶点网络的构建与分析

将 1.2 得到的青蒿活性成分及靶点与新冠肺炎相关靶点于 Omicshare 云平台取交集, 所得交集靶点即为青蒿作用于新冠肺炎的预测靶点. 构建“药物—活性成分—疾病—靶点”网络图, 利用 Cytoscape 3.6.1 软件中的“Network Analyzer”功能对青蒿化学成分—作用靶点网络进行分析. 节点(node)代表青蒿及其活性成分、疾病、靶点; 边(edge)展现青蒿与活性成分、活性成分与疾病、疾病与靶点之间的联系.

### 1.5 PPI 网络的构建及关键靶点筛选

为进一步研究青蒿干预新冠肺炎的作用机制, 将 1.4 交集得到的靶点导入 STRING 11.0 进行蛋白质与蛋白质相互作用(PPI)分析, 将种属设置为“Homo sapiens”, 最低相互作用评分设置为 0.400, 网络边含义设置为“molecular action”, 其余参数保持默认设置, 得到青蒿作用于新冠肺炎的 PPI 网络. 借助 Cytoscape 3.6.1 软件中的“Network Analyzer”功能对 PPI 网络进行拓扑分析, 选取自由度(Degree)大于平均值的靶点为关键靶点<sup>[6]</sup>.

## 1.6 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析

将 1.5 筛选出的关键靶点运用 STRING 11.0 “Analysis”功能,进行基因功能(gene ontology, GO)分析和基于京都基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析<sup>[7]</sup>。

## 2 结 果

### 2.1 青蒿活性成分及靶点的筛选结果

在 TCMSP 中获得 216 个化合物,设定  $OB \geq 30\%$ ,  $DL \geq 0.18$ , 得到化合物 22 个,逐一对应发现 3 个化合物无对应靶点,分别是青蒿烯(artemisiten)、维采宁-2(vicenin-2\_qt)、双氢青蒿素(dihydroartemisinin)。采用 Pubchem 数据库对 TCMSP 未预测出靶点的 3 个化合物进行预测,仍未获得靶点信息,故青蒿活性成分为 19 个(表 1),对应 182 个靶点。

表 1 青蒿活性成分信息表

活性成分汉语名称	活性成分英语名称	CAS 编号	OB/%	DL
泽兰黄醇素	eupatin	19587-65-6	50.80	0.41
异鼠李素	isorhamnetin	480-19-3	49.60	0.31
没食子酸	sitosterol	149-91-7	36.91	0.75
怪柳黄素	tamarixetin	603-61-2	32.86	0.31
藤菊黄素	patuletin	519-96-0	53.11	0.34
山奈酚	kaempferol	520-18-3	41.88	0.24
豆甾醇	stigmasterol	83-48-7	43.83	0.76
茵陈黄酮	areapillin	83162-82-7	48.96	0.41
艾黄素	artemetin	479-90-3	49.55	0.48
木犀草素	luteolin	491-70-3	36.16	0.25
蓟黄素	skrofullein	6601-62-3	30.35	0.30
线蓟素	cirsiliol	34334-69-5	43.46	0.34
牡荆苷	vitexin_qt	N/A	52.18	0.21
甲氧基万寿菊素	DMQT	5188-73-8	42.60	0.37
灰绿曲霉酰胺	asperglaucide	56121-42-7	58.02	0.52
芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷	6,8-di-c-glucosylapigenin_qt	N/A	59.85	0.21
青蒿素	artemisinin	63968-64-9	49.88	0.31
脱氧青蒿素	deoxyartemisinin	72826-63-2	54.47	0.26
槲皮素	quercetin	117-39-5	46.43	0.28

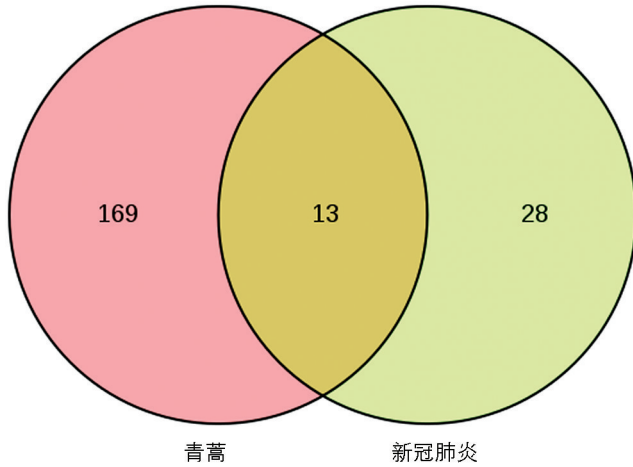
注: N/A 表示未检索到 CAS 编号。

### 2.2 新冠肺炎靶点获取结果

从 GeneCards 数据库中检索到新冠肺炎相关靶点 60 个,设定分值( $S \geq 10.00$ )后,得到 41 个靶点。

### 2.3 青蒿—活性成分—疾病靶点网络的构建与分析

将 182 个化合物靶点与 41 个新冠肺炎靶点取交集,得到 13 个交集基因(图 1),对应青蒿中 14 个化合物。利用 Cytoscape 3.6.1 软件构建青蒿—活性成分—疾病靶点相互作用网络,网络中有 29 个节点和 114 条边(图 2)。图 2 中绿色填充为青蒿,紫色填充为活性成分,红色填充为靶点,黄色填充为新冠肺炎。图中槲皮素、木犀草素、山奈酚等黄酮类化合物度值较高,靶点为 NOS2 的化合物有 12 个,分别为泽兰黄醇素、怪柳黄素、藤菊黄素、茵陈黄酮、艾黄素、蓟黄素、线蓟素、牡荆苷、甲氧基万寿菊素、芹菜素-6,8-C-二葡萄糖苷、异鼠李素和山奈酚。



(a) 药物与疾病靶点交集情况

交集基因		
CXCL10	CXC 趋化因子配体 10, 又称干扰素诱导蛋白 10	C-X-C Motif Chemokine Ligand 10
IL4	白细胞介素 4	Interleukin 4
TP53	肿瘤蛋白 P53	Tumor Protein P53
NOS2	一氧化氮合酶 2	Nitric Oxide Synthase 2
TNF	肿瘤坏死因子	Tumor Necrosis Factor
CRP	C 反应蛋白	C-Reactive Protein
MCL1	MCL1 凋亡调节器	MCL1 Apoptosis Regulator
CCL2	C-C 基序趋化因子配体 2	C-C Motif Chemokine Ligand 2
NOS3	一氧化氮合酶 3	Nitric Oxide Synthase 3
IL6	白细胞介素 6	Interleukin 6
IL1B	白细胞介素 1β	Interleukin 1 Beta
SOD1	超氧化物歧化酶 1	Superoxide Dismutase 1
CASP3	半胱氨酸蛋白酶 3	Caspase 3

(b) 交集基因名称

图 1 青蒿化合物靶点与新冠肺炎靶点取交集结果

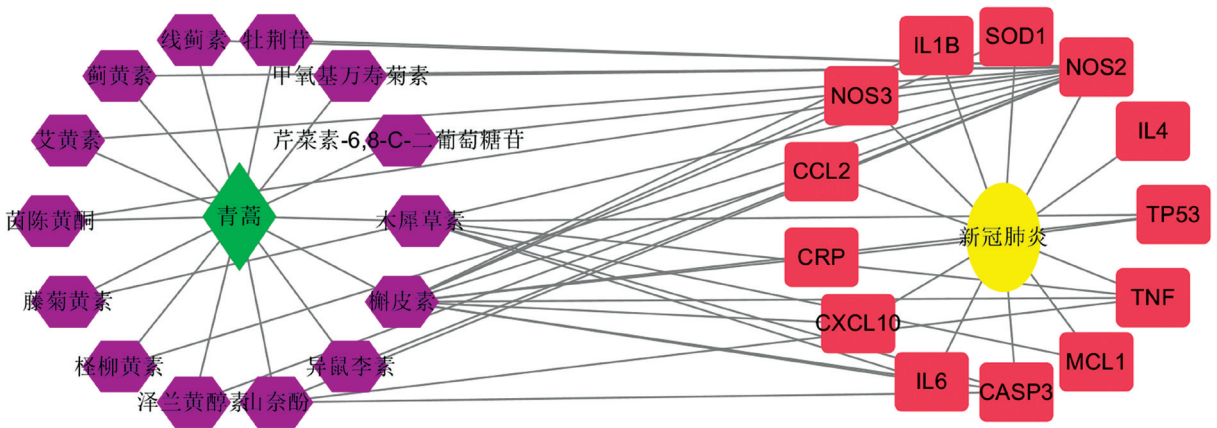


图 2 青蒿干预新冠肺炎“药物—活性成分—疾病靶点”网络图

### 2.4 PPI 网络的构建及关键靶点筛选结果

将 13 个交集基因通过 STRING 11.0 进行 PPI 网络分析(图 3), 可知网络所有靶点均可以发生蛋白相互作用, 128 条边代表了蛋白之间的相互作用. 网络中各节点的平均自由度为 9.8, 筛选后得到 7 个核心靶点(IL6, TNF, CCL2, IL1B, NOS2, TP53, CASP3), 见表 2.

表 2 PPI 网络中核心靶点一览表

靶点名称	自由度	是否核心靶点	靶点名称	自由度	是否核心靶点
IL6	12	是	CRP	9	否
TNF	12	是	IL4	9	否
CCL2	11	是	CXCL10	9	否
IL1B	11	是	NOS3	9	否
NOS2	10	是	SOD1	8	否
TP53	12	是	MCL1	4	否
CASP3	12	是			

### 2.5 GO 功能分析结果

7 个青蒿—新冠肺炎核心基因影响了 266 个生物学过程( $p < 0.01$ ,  $FDR < 0.01$ ). 选取  $FDR$  值排名前 20 的功能信息(图 4), 结果显示核心基因主要富集在细胞对生物刺激的反应、细胞因子介导的信号通路、对脂多糖的反应、对生物刺激的反应等生物过程中.

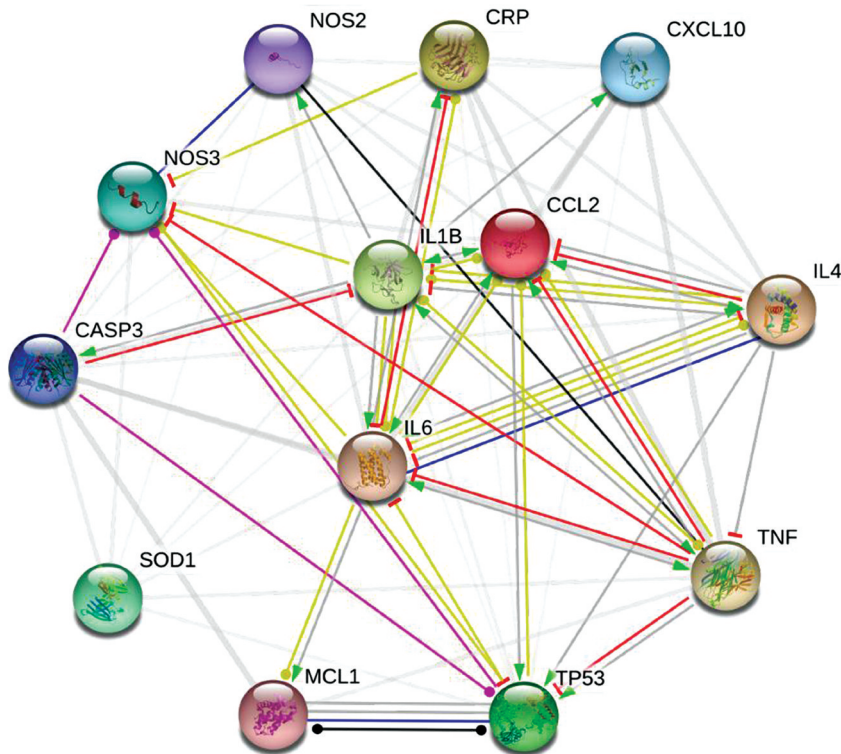


图 3 药物-疾病 PPI 网络图

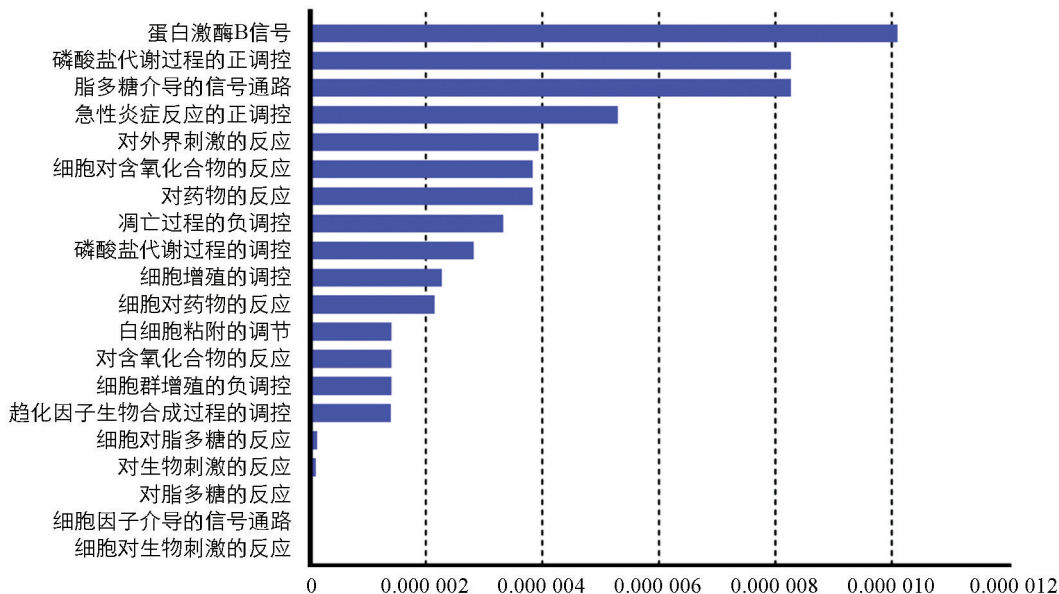


图 4 青蒿干预新冠肺炎关键靶点 GO 富集分析柱状图

### 2.6 KEGG 通路富集分析结果

7 个青蒿-新冠肺炎核心基因富集在 59 条通路上 ( $p < 0.01$ ,  $FDR < 0.01$ ), 选取  $FDR$  值排名前 20 的通路(图 5), 其中与抗病毒密切相关的通路包括 NOD 样受体信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路。

## 3 讨论与结论

新冠肺炎是新发的传染性疾病, 对居民日常起居、睡眠和生活习惯均产生了不利影响<sup>[8]</sup>, 甚至危及生命。本文运用网络药理学的方法, 系统分析青蒿干预新冠肺炎的机理。首先通过查询数据库获取青蒿中的活性成分以及靶点信息, 将获取的靶点信息与疾病的靶点信息取交集后构建“药物-成分-疾病”靶点网络图, 从而

识别核心靶点干预的基本生物学功能和疾病信号转导通路,进而揭示青蒿对新冠肺炎作用的可能机制<sup>[9]</sup>.

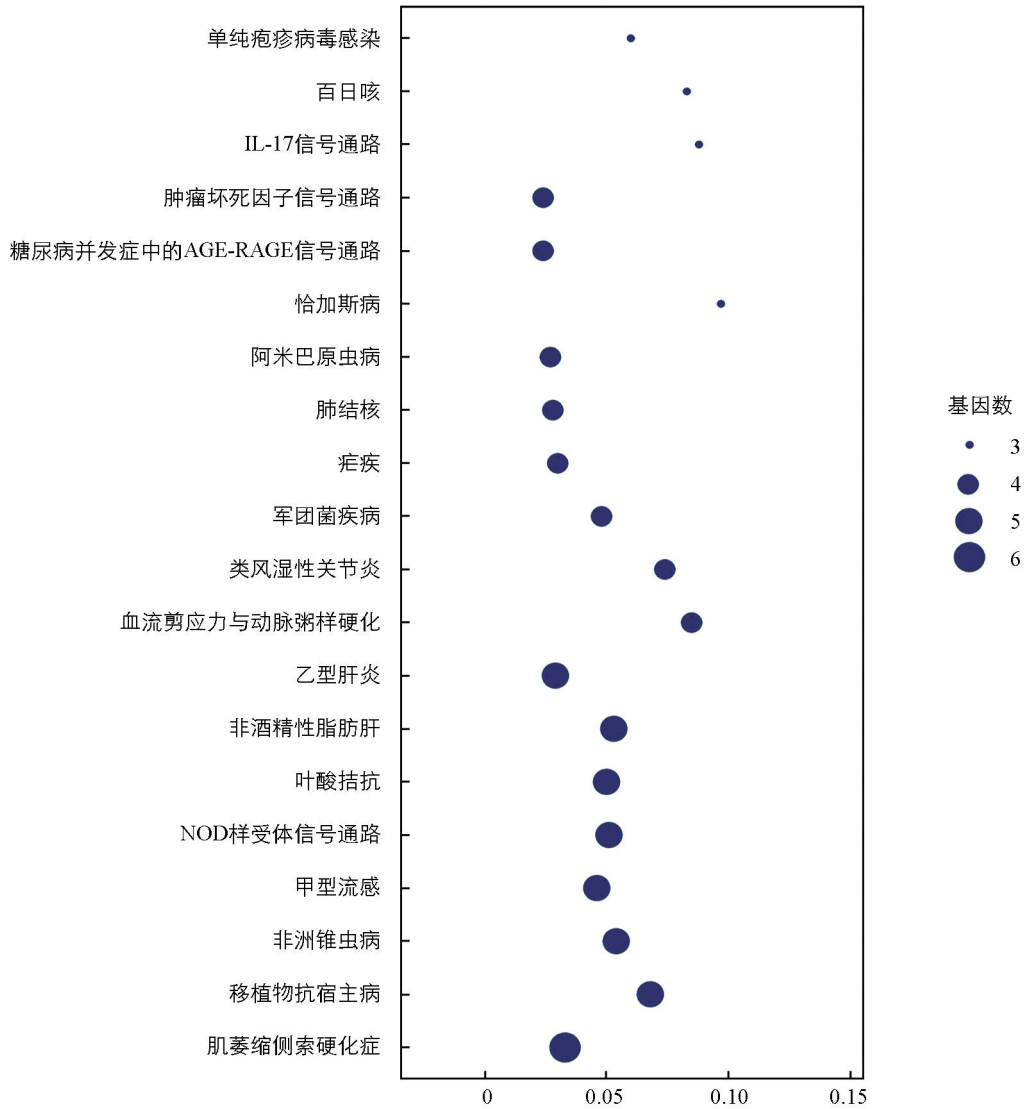


图 5 青蒿干预新冠肺炎关键靶点参与通路富集信息图

通过对 TCMSp 数据库及 Pubchem 数据库的查询、分析得出,青蒿干预新冠肺炎的活性成分有 14 个,其中 12 个活性成分均可作用于 NOS2. 活性成分中度值较高的黄酮类化合物已有研究报道,槲皮素、山奈酚、木犀草素与新冠肺炎推荐药的亲和力相似<sup>[10-11]</sup>. 槲皮素、山奈酚、木犀草素均为常见的中药化学成分,对它们的研究较早、较多,具有抗炎、抗氧化应激等作用<sup>[12-13]</sup>. 对新冠肺炎逝者解剖结果显示,巨噬细胞渗出性炎症是重要的病理表现<sup>[14]</sup>,表明槲皮素、山奈酚、木犀草素是干预新冠肺炎发病过程的有效成分,而靶点为 NOS2 的其他活性成分也是关注的重点.

NOS2 是本研究的核心靶点之一,其在免疫、炎症、肿瘤、病毒感染等方面均能发挥作用<sup>[15]</sup>. 在流感病毒致死的基因组研究中,NOS2 与存活率相关,其证据是患者死亡前 24h 内 NOS2 表达异常上调<sup>[16]</sup>. 针对巨病毒的研究亦认为,NOS2 的缺乏是致死的重要原因<sup>[17]</sup>. 此外,缺氧可诱导 NOS2 高表达<sup>[18]</sup>. 新冠肺炎解剖提示肺通气—换气功能障碍<sup>[14]</sup>,表明 NOS2 与新冠肺炎密切相关.

TNF/NOS2 是巨噬细胞在感染后启动固有免疫防御的重要信号通路<sup>[19]</sup>. 感染可激活固有免疫细胞,固有免疫分子发挥固有免疫防御是免疫学的共识. 新型冠状病毒感染激活的主要是巨噬细胞,巨噬细胞分泌 TNF 以抑制病毒复制,TNF 的过表达促进 TNF/NOS2 信号通路启动,导致 IL-6,IL1B 等炎症因子过表达,IL 过表达会加重炎症<sup>[20]</sup>,新冠肺炎临床研究也证实了这一点<sup>[21]</sup>. 核心靶点的 GO 功能富集分析印证了青蒿通过信号转导等生物过程干预新冠肺炎. 通过对 KEGG 通路分析,青蒿可作用于 TNF/NOS2 信

号通路的多个靶点,认为青蒿可能通过 TNF/NOS2 信号通路减轻新冠肺炎的肺部炎性损伤。

综上所述,本文采用网络药理学的策略对青蒿中的活性成分、作用靶点及通路进行了快速分析,表明青蒿应用于新冠肺炎具有一定的可行性,揭示青蒿通过多成分、多靶点、多途径作用于新冠肺炎,主要的作用通路为 TNF/NOS2 信号通路。

### 参考文献:

- [1] 伏籽桥,刘焱斌,尹万红,等.关于呼吸道新型冠状病毒感染疾病名称及临床诊断的思考[J].中国呼吸与危重监护杂志,2020,19(2):128-129.
- [2] PHAN L T, NGUYEN T V, LUONG Q C, et al. Importation and Human-to-Human Transmission of a Novel Coronavirus in Vietnam [J]. The New England Journal of Medicine, 2020, 382(9): 872-874.
- [3] 刘昌孝,王玉丽,张洪兵,等.基于新型冠状病毒感染防控需求,重视中药科学研究与应用[J].中草药,2020,51(6):1361-1374.
- [4] 张炜,吴银根,张惠勇,等.《上海市新型冠状病毒感染的肺炎中医诊疗方案(试行)》解读[J].上海中医药杂志,2020,54(3):1-4.
- [5] 师帅,胡元会,吴华芹,等.“丹参—三七”药对作用机制的网络药理学探讨[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(18):192-197.
- [6] 王林,杨志华,张浩然,等.连花清瘟治疗新型冠状病毒(2019-nCoV)肺炎网络药理学研究与初证[J].中药材,2020,43(3):772-778.
- [7] 施岚尔,聂课朝,张文婧,等.基于网络药理学的小陷胸汤治疗2型糖尿病的药理机制[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(4):198-206.
- [8] 何令,高源,高笑,等.新冠疫情期间居民的睡眠规律与身心健康:易感因素与应对策略[J].西南大学学报(自然科学版),2020,42(5):11-20.
- [9] 范吉林,朱婷婷,张世亮.基于网络药理学探讨药对“金银花—黄芪”对 COVID-19 的潜在作用机制研究[J].海南医学院学报,2020,26(10):735-741.
- [10] 邓燕君,刘博文,贺桢翔,等.基于网络药理学和分子对接法探索藿香正气口服液预防新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物研究[J].中草药,2020,51(5):1113-1122.
- [11] 姚运秀,贺桢翔,刘晓凤,等.基于网络药理学和分子对接技术的抗病毒颗粒治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的潜在物质基础研究[J].中草药,2020,51(6):1386-1396.
- [12] 周霄楠,韩超,宋鹏琰,等.木犀草素和槲皮素体外抗炎作用研究[J].动物医学进展,2017,38(10):56-61.
- [13] 张雅雯,邵东燕,师俊玲,等.山奈酚生物功能研究进展[J].生命科学,2017,29(4):400-405.
- [14] 郭春良,王风云,陈旭义,等.基于新冠肺炎病理解剖及免疫改变的中西医结合治疗探讨[J].武警医学,2020,31(4):349-350,365.
- [15] 史丙科,李守林. NF- $\kappa$ B/iNOS-NO 信号转导通路的临床研究进展[J].医学理论与实践,2020,33(24):4081-4083.
- [16] KLONOSKI J, WILLIAMS M, HUBER V. Metagenomic Characterization of Influenza Virus; Bacteria Super-Infections Associated with Death and Survival [J]. American Journal of Clinical Pathology, 2019, 152(S1): S26.
- [17] DRUTMAN S B, MANSOURI D, MAHDAVIANI S A, et al. Fatal Cytomegalovirus Infection in an Adult with Inherited NOS2 Deficiency [J]. New England Journal of Medicine, 2020, 382(5): 437-445.
- [18] WRANDE M, VESTÖ K, PUIAC BANESARU S, et al. Replication of Salmonella Enterica Serovar Typhimurium in RAW<sub>264.7</sub> Phagocytes Correlates with Hypoxia and Lack of iNOS Expression [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2020(10): 537782.
- [19] SERBINA N V, SALAZAR-MATHER T P, BIRON C A, et al. TNF/iNOS-Producing Dendritic Cells Mediate Innate Immune Defense Against Bacterial Infection [J]. Immunity, 2003, 19(1): 59-70.
- [20] 杜伟,黄文涛,罗金萍,等.四季青水提液对慢性变应性接触性皮炎大鼠 AIM2/Caspase-1 炎症小体的影响[J].西南大学学报(自然科学版),2021,43(2):63-69.
- [21] 许靖,韩明锋,赵凤德,等.155例新型冠状病毒肺炎患者的临床表现与血清免疫学特点[J].中华医院感染学杂志,2020,30(15):2261-2265.